

PCT

WORLD INTELLECTUAL PROPERTY ORGANIZATION
International Bureau



INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

<p>(51) International Patent Classification ⁵ : A01N 1/02, A61B 17/00, 19/00 A61F 5/44, 5/453, 5/455 A61F 6/04, 6/08, A61J 1/10 A61J 1/12, A61K 31/015, 45/08 A61L 2/18, 15/00, A61M 5/32</p>	<p>A1</p>	<p>(11) International Publication Number: WO 90/07876</p> <p>(43) International Publication Date: 26 July 1990 (26.07.90)</p>
<p>(21) International Application Number: PCT/US90/00398</p> <p>(22) International Filing Date: 18 January 1990 (18.01.90)</p> <p>(30) Priority data: 299,971 19 January 1989 (19.01.89) US</p> <p>(71) Applicant: NEW YORK UNIVERSITY [US/US]; 70 Washington Square South, New York, NY 10012 (US).</p> <p>(72) Inventors: MERUELO, Daniel ; 9 Country Club Road, Scarborough, NY 10510 (US). LAVIE, Gad ; 21 East 15th Street, New York, NY 10003 (US).</p>		<p>(74) Agents: FRANKFORT, Howard, M. et al.; Darby & Dar- by, 805 Third Avenue, New York, NY 10022 (US).</p> <p>(81) Designated States: AT (European patent), AU, BE (Euro- pean patent), CA, CH (European patent), DE (Euro- pean patent), DK (European patent), ES (European pa- tent), FI, FR (European patent), GB (European patent), IT (European patent), JP, KR, LU (European patent), NL (European patent), NO, SE (European patent).</p> <p>Published <i>With international search report.</i></p>
<p>(54) Title: BIOLOGICAL FLUIDS PURIFICATION SYSTEMS</p> <p>(57) Abstract</p> <p>The present invention provides compositions, articles and methods for inactivating viruses present in whole blood and other body fluids. The method comprises contacting the body fluids with an effective amount of an antiviral compound. Blood bags, vacuum blood tubes, condoms, spermicidal jellies and vaginal lubricants containing effective amounts of the antiviral compounds are also provided.</p>		

⑫ 公表特許公報(A)

平3-504815

⑬ 公表 平成3年(1991)10月24日

⑭ Int.Cl.⁵

A 61 L 2/18

⑮ 識別記号

⑯ 庁内整理番号

7038-4C

7132-4C

7603-4C

A 61 J

A 61 F

⑰ 審査請求

予備審査請求

1/00

5/43

⑱ 未請求

未請求

3 0 0

⑲ 部門(区分) 1(2)

※

(全 18 頁)

⑳ 発明の名称 血液浄化システム

㉑ 特 願 平2-503256

㉒ 出 願 平2(1990)1月18日

㉓ 翻訳文提出日 平2(1990)9月19日

㉔ 国際出願 PCT/US90/00398

㉕ 国際公開番号 WO90/07878

㉖ 国際公開日 平2(1990)7月26日

優先権主張 ㉗ 1989年1月19日 ㉘ 米国(US) ㉙ 299,971

㉚ 発 明 者 メリュエロ, ダニエル

アメリカ合衆国 ニューヨーク 10510 スカボロ カントリー
クラブ ロード 9

㉛ 出 願 人 ニューヨーク ユニバーシティ

アメリカ合衆国 ニューヨーク 10012 ニューヨーク ワシント
ン スクウェア サウス 70

㉜ 代 理 人 弁理士 志賀 正武 外3名

㉝ 指 定 国 AT(広域特許), AU, BE(広域特許), CA, CH(広域特許), DE(広域特許), DK(広域特許), ES(広域
特許), FI, FR(広域特許), GB(広域特許), IT(広域特許), JP, KR, LU(広域特許), NL(広域特
許), NO, SE(広域特許)

最終頁に続く

請求の範囲

1. ウイルスによって汚染されたであろう生物学的液体を保持するための容器と、前記ウイルスを不活性化するための少なくとも一つの抗ウイルス性化合物の有効量とを含む製品からなるもので、前記化合物は、前記液体が前記容器に入れられた際に、前記液体と前記化合物が接触するようにして前記容器の適当な場所に処理されていることを特徴とする製品。

2. 請求の範囲第1項記載の製品であって、前記化合物は固形または液状であることを特徴とする製品。

3. 請求の範囲第1項記載の製品であって、該製品は血液袋を含むことを特徴とする製品。

4. 請求の範囲第1項記載の製品であって、該製品は血液真空保存チューブを含むことを特徴とする製品。

5. 請求の範囲第1項記載の製品であって、該製品はコンドームを含むことを特徴とする製品。

6. 請求の範囲第1項記載の製品であって、該製品は試験管を含むことを特徴とする製品。

7. 請求の範囲第1項記載の製品であって、該製品は尿管を

含むことを特徴とする製品。

8. 請求の範囲第2項ないし第7項のうちのどれか一つの項に記載の製品であって、前記有効量は、前記容器に入れられた前記生物学的液体に存在するヒト免疫不全ウイルスの感染性を除去するのに十分な前記抗ウイルス性化合物の分量であることを特徴とする製品。

9. 請求の範囲第1項記載の製品であって、前記ウイルスはヒト及び家畜化された哺乳動物のエンベロープを有するウイルスからなる群から選択されるものであることを特徴とする製品。

10. 生物学的液体を保持する手段と前記ウイルスを不活性化させるための抗ウイルスの有効量からなる抗ウイルス性化合物とからなる製品において、前記化合物は、アロマトックポリサイクリッククワテルと、該アロマトックポリサイクリッククワテルの類似体、異性体、同族体または誘導体と、それらの混合物とから選択される少なくとも一つの化合物であり、前記化合物は、前記液体が前記手段に保持される際に、前記液体と前記化合物が接触するようにして前記手段の適当な場所に前記化合物が処理されていることを特徴とする製品。

11. 生物学的液体を保持するための手段を含む装置に存在するウイルスの感染性を除去するための方法であって、該方

法は前記手段と、抗ウイルスの有効量からなる抗ウイルス性化合物とを接触させる方法を含むことを特徴とするウイルス感染除去方法。

12. 請求の範囲第11項記載の方法であって、前記ウイルスはヒト免疫不全ウイルスであることを特徴とするウイルス感染除去方法。

13. 請求の範囲第11項記載の方法であって、前記ウイルスはHTLV-1であることを特徴とするウイルス感染除去方法。

14. 殺菌剤と、抗ウイルスの有効量の抗ウイルス性化合物とからなることを特徴とする組成物。

15. 請求の範囲第14項記載の組成物であって、前記有効量はエンベロープを有するウイルスの感染性を除去するのに有効な量であることを特徴とする組成物。

16. 請求の範囲第14項記載の組成物であって、前記抗ウイルス性化合物は、アロマトチックポリサイクリックジオンであることを特徴とする化合物。

17. 請求の範囲第15項記載の組成物であって、前記有効量はレトロウイルスの感染性を除去するのに有効な量であることを特徴とする組成物。

24. 請求の範囲第22項の組成物であって、前記生物学的液体は血液と、輸血可能な血液置換物とからなる群から選択されることを特徴とする組成物。

25. 請求の範囲第22項記載の組成物であって、前記生物学的液体は精液であることを特徴とする組成物。

26. 請求の範囲第21項ないし第25項のうちのどれか一つの項に記載された組成物であって、前記有効量は前記生物学的液体に存在するヒト免疫不全ウイルスの感染性を除去するのに有効な量で、かつ前記抗ウイルス性化合物はアロマトチックポリサイクリックジオンであることを特徴とする組成物。

27. 請求の範囲第26項記載の組成物であって、前記ジオンはヒペリシンとシェードヒペリシンとから選択されるものであることを特徴とする組成物。

28. 殺菌剤と、抗ウイルスの有効量からなる抗ウイルス性化合物とからなることを特徴とする組成物。

29. ウイルスに汚染されたであろう生物学的液体と接触するための表面と、前記ウイルスを不活性化させるのに有効な量の抗ウイルス性化合物とを含む製品において、前記液体が前記表面に接触するのにも阻まれることなく前記化合物が前記液体に接触するようにして、前記化合物が前記製品に処理され

18. 請求の範囲第17項記載の組成物であって、前記有効量はヒト免疫不全ウイルスの感染性を除去するのに有効な量であることを特徴とする組成物。

19. 請求の範囲第18項記載の組成物であって、前記組成物はヒペリシンであることを特徴とする組成物。

20. 請求の範囲第18項記載の組成物であって、前記有効量は細胞間融合によるヒト免疫不全ウイルスの感染性を除去するのに有効な量であることを特徴とする組成物。

21. 生物学的液体と、抗ウイルスの有効量からなる抗ウイルス性化合物とを含むことを特徴とする組成物。

22. 請求の範囲第21項記載の組成物であって、前記抗ウイルス性化合物は、ヒペリシン、シェードヒペリシン、異性体、類似体、同族体、誘導体およびそれらの混合物からなる群から選択される生理学的に許容できる量であることを特徴とする組成物。

23. 請求の範囲第21項記載の組成物であって、前記抗ウイルス性化合物は、アロマトチックポリサイクリックジオンと、該アロマトチックポリサイクリックジオンの類似体、異性体、同族体または誘導体と、それらの混合物とから選択される生理学的に許容できる量であることを特徴とする組成物。

ていることを特徴とする製品。

30. 請求の範囲第29項記載の製品であって、コンドームであることを特徴とする製品。

31. 生物学的液体を保持する手段と、前記ウイルスを不活性化させるための抗ウイルスの有効量からなる抗ウイルス性化合物とからなる製品において、前記化合物は、アロマトチックポリサイクリックジオンと、該アロマトチックポリサイクリックジオンの類似体、異性体、同族体または誘導体と、それらの混合物とから選択される生理学的に許容できる量であり、前記化合物は、前記液体が前記手段に保持される際に、前記液体と前記化合物が接触するようにして前記手段の適当な場所に前記化合物が処理されていることを特徴とする製品。

発明の背景

この発明は、血液などの体液、そして一般的には生物学的液体中に存在するウイルスとレトロウイルスとを不活性化させるための組成物と方法、さらにその方法を実施するうえで用いられる製品に関するものである。

エイズの原因となるヒト免疫不全ウイルス (HIV) は、世界中のウイルス感染リスクの高い環境下にある人々 (ハイリスクグループ) の間に急激に広まっている。このHIVは血清学的に2つの血清型 (セロタイプ) が同定されており、それぞれHIV-1及びHIV-2と命名された。HIVに感染された患者は、血液、尿、唾液、汗、精液および唾液からウイルスが発見される。これらの体液中におけるウイルスの存在は、ウイルス感染者の健康のみならず、感染患者に接する医療関係の人々の健康も脅かしている。

HIVによって汚染された血液または血液製剤の輸血によるHIV感染に関しては多くの報告がある。米国では、輸血によるHIV感染に関する報告が1,000以上もなされている。さらに、血液銀行での日常的HIVスクリーニングが実施されるまでの間 (1978年から1984年までの間) では12,000以上の人が輸血によってHIV感染されたと考えられている。このHIV感染はHIV汚染血液または血液製剤の輸血を受けた患者

イト、NP-40のような洗剤類、加熱、強または弱pHがHIVの不活性化に用いられている。これらの薬剤はHIVのウイルス逆転写酵素活性阻害または感染性ウイルス粒子数の減少に対して不安定な効果を示す。しかしながら、これらの技術は既知のHIV感染に関連した臨床検査、特に細胞の増殖力を維持することまたは試料中に存在するHIV以外の感染性物質を維持することを基本としている臨床試験を妨害する。また、これらの技術を輸血に用いる血液または血液製剤に利用することは適当ではない。さらに、血液や他の体液、または強力に感染された血液または血液製剤の輸血を行なう医療関係者が、既知の薬剤を取り扱うことは実践的であるとはいえない。

ノンオキシノール-9 (ノニルフェノキシポリソキシエタノール、殺精子効果を有するポリエトキシレートフェノール) と他の殺精子性を有する化合物をコンドームの潤滑剤として、あるいはコーティング剤として用いることによって、HIVを不活性化することが報告されている。

ノンオキシノール-9 の、フリーのウイルスに対する有効量は、0.05% (vol/vol) 以上である。しかし、ノンオキシノール-9 はHIV感染細胞内に存在するウイルスに対しては効果を示さない。

したがって、従来から求められてきたことは、生物学的液体中に存在するウイルス粒子、特にHIVのようなレトロウイルスを不活性化することで、かつこのような汚染された生物学的液体によってヒトがウイルス感染される前に、ウイルスを不活性化してしまうための方法である。

の90-100%に達する。しかし、1983年に日常的な血清学的試験がなされるようになったにもかかわらずHIVのスクリーニング方法に限界があるため、輸血によるHIV感染の危険性 (リスク) は極めて高い。現在の試験方法 (HIVに対する抗体のスクリーニングも含む) では、感染後6ヶ月経過以前の患者とHIVの保持者は時としてHIV感染の程度にかかわらず検査結果が (-) として現われることからHIV感染血液提供者 (ドナー) を同定することは困難である。

さらに、注射針や破断された血液によって偶然に感染してしまった医療関係者は他のハイリスクグループを形成するものであるが、スクリーニングの対象から外されており、試験の限界を示している。

他のハイリスクグループは、HIV感染者と性交するセックスパートナー連である。HIVに汚染された精子によるHIVの伝染は、明らかに性交によるHIVの広がりを含んでいる。しかし、HIVに汚染された尿、唾液または汗による感染に関しては何ら報告がなされていないことから、これらの体液による感染の危険性はないと考えられる。

多くの化学的および物理的方法が生物学的液体またはそのような液体を解析するために用いられる実験器具に含まれるHIVを不活性化させるために用いられてきた。

市販されている感染防止剤 (例えば、商品名: ライソル; LYSOL[®]) のみならず、エタノールまたはイソプロパノールのようなアルコール類、パラフォルムアルデヒド、銀錯化したホルマリン、ヒドロジエンパーオキシド、ハイポクロ

このことから、本発明の目的の一つは、全血液または他の体液に存在するであろうウイルス、特にレトロウイルスを不活性化させるための方法、手段および組成物を提供することである。

このような本発明の目的は、本願の記載内容、特許請求の範囲および図面を参照することによって、当業者に容易に理解されることだろう。

本発明の要約

本発明の一態様は、生物学的液体と、抗ウイルス (及び/または抗レトロウイルス) の有効量からなる抗ウイルス性化合物と保持する手段を含む製品に関するもので、この抗ウイルス性化合物は抗ウイルス性アロマチックポリサイクリックジオンと、その異性体、同族体、類似体または誘導体と、前記ジオンの塩と、それらの組み合わせたものからなる群から選択される少なくとも一つの化合物であり、また有効量は生物学的液体が保持手段中に含まれる際に示される抗ウイルス的 (及び/または抗レトロウイルス的) 感染阻害効果を示すものである。

図の詳細な説明

第1図は、ウイルスをヒペリシンまたはシュードヒペリシンとともに培養した後に、エイズ患者から分離されたHIVの不活性化を示すグラフである。

第2図は、エイズ患者から得た培養HIVの感染性に対するヒペリシンまたはシュードヒペリシンの効果を示すグラフである。

第3図は、感染AQR細胞から出芽する放射白血病ウイルス(Radiation Leukemia Virus)の感染性をヒペリシンによって阻害することを示すグラフである。

発明の詳細な説明

本発明において参考とした特許出願、特許および研究関連の文獻は、それぞれ括弧書きで本明細書中に記載した。

本発明は偶然にも、生物学的液体の試料中に存在していると思われるウイルスおよびレトロウイルス、特にHIVの感染性を實質的に減少または完全に排除することが可能な抗ウイルス性化合物を発見した。この化合物によるウイルスおよびレトロウイルスの感染性の減少または除去は、前記試料に対して行なわれるほとんどの日常的な臨床検査になら顯著な影響を及ぼすものではないことがわかった。そして、ウイルスまたはレトロウイルスを不活性化することに用いることが可能な抗ウイルス化合物は、哺乳類動物の血液または血液製

本発明の抗ウイルス性化合物は、容器、真空パック、血液パック、注射筒、注射針、チューブまたは他の臨床または研究用部材や、生物学的液体の採集、保持、保存、加工、運搬または試験に用いられる製品に取り込まれる（または使用と感染防止に利用される）。本発明の抗ウイルス性化合物は、HIVの不活性化にも利用できる。また、可塑性プラスチックバッグのような血液を保存したり輸血したりするための器具や装置に化合物が直接取り込まれることによって、輸血に利用されると血液製剤中に存在する他のレトロウイルス（ウイルスと同様に）の不活性化に利用できる。他の利用方法として、本発明の抗ウイルス化合物は男性および女性避妊器具および組成物に用いられることによって、精液および膣液に含まれるHIVと他のレトロウイルスとウイルスとを不活性化させ、そのようなウイルスの性交による伝染を阻害することが可能である。

抗ウイルス化合物は、ウイルスとレトロウイルスとの不活性化に關して幅広い効果を示すもので、特にエンベロープに覆われたウイルス(enveloped viruses)の不活性化に効果を示す。本発明の化合物にさらされることによって不活性化されるウイルスの非限定例は、HTLV-I、HTLV-II、HTLV-III(HIVとしても知られている)、ヘパチタス-B、サイトメガロウイルス、単純ヘルペスウイルスなどである。また、抗ウイルス化合物にさらすことによって不活性化されるものとして辛レンテウイルス(例えば、ヤギ園蹄疫ウイルス、ビスナウイルス、牛白血病ウイルス、水疱性口内炎

物への添加、または輸血に際して、細菌毒性または他の不適当な事象を引き起こすことなく、抗ウイルス効果を成し遂げることが可能である。

本発明の抗ウイルス性化合物は、尿や血清のような生物学的液体中に存在するHIVに対する抗体を抽出するために利用されるELISA(酵素結合免疫吸着法)およびウエスタンブロット法を実施する際の助けにはならない。このことは、本発明の抗ウイルス性化合物が、臨床検査で決定される哺乳類血液の一般成分または血液化学的成分に対して何ら顯著な作用を及ぼさないことを示している(下記の実施例2を見よ)。また、本発明の抗ウイルス性化合物が生物学的液体の保存、運搬または加工に用いられる容器や装置を構成する物品(例えば、ガラス、プラスチック、その他)の構造または機械的性質(例えば、抗張力)に影響を及ぼすようなことや、または逆に生物学的液体と容器との間での相互作用的な反応を引き起こすというようなことはない。

本願においてウイルス(またはレトロウイルス)の不活性化とは、ウイルスの哺乳類動物細胞への感染能力が減少または除去されたことを意味する。そのような不活性化は、細胞融合による感染増殖やウイルス出芽と同様にフリーなウイルス粒子に關しても該当する。よって、ウイルス(またはレトロウイルス)を不活性化するための本発明抗ウイルス性化合物の量は、ウイルス(またはレトロウイルス)が哺乳類動物細胞に感染および(または)侵入することを阻止するのに有効な量であると考えられることができる。

ウイルス(VSV)、その他)のような動物の病気に關係したウイルスがあげられる。

ここで、“生物学的液体(Biological fluids)”とは、血液、血清、血液製剤(血漿、血小板、赤血球、低温沈殿物、免疫グロブリン、凝固因子、例えば抗血友病因子、またはフォン・ビルブラント凝固因子)、精液、唾液、粘液、膿液、涙、汗液、尿、唾液、培養液、研究用試薬および培養などを意味する。

また“抗ウイルス性化合物”とは、生理学的に許容な異性体、同族体、類似体、誘導体および前記ゾンの塩およびそれらの組み合わせとも、抗ウイルス性および(または)抗レトロウイルス性を有し、この活性によってウイルスおよびレトロウイルスの感染性を除去または減少させることができる化合物を示し、ポリサイクリックアゾ化合物(ヒペリシン、シュードヒペリシン、その他)からなるものである。

ここで“同族体”とは、一つまたは複数の炭素原子と、一つまたは複数の水素原子または水素原子対(非限定的実施例である下記化合物XVIおよびXVIIの場合を見よ；また米国特許第2,707,704号にもとづいて合成された化合物の族の左上端個中にある化合物と、この化合物のR基がエチル及び(または)水素原子に置換された同一体(homologs)と、バンクスの論文(Banks, H. J. et al., infra etc.)に開示された化合物8および化合物10を見よ)を含むものである。

“異性体”は、本発明のポリサイクリックアロマチックジ

オンと同じ分子式を持つ化合物を意味するもので、非限定的には、構造異性体、鎖長異性体、位置異性体、光学異性体および立体異性体（例えば、cisおよびtrans、+及び-、dおよびl）（非限定的な例として、バンクスの論文（Banks, H. J. et al., *infra* etc.））に開示された化合物17とその異性体、例えば中央にある水素原子が紙の平面の上側方向と下側方向に位置しているものと、ワイスらの論文（Weiss, U. et al., *infra*）の化合物25、これはいくつもの非対象炭素原子とその光学異性体を有するものとを見よ）を含むものである。

“類似体（アナログ）”は、本ツオンと同様の能力を有するポリサイクリックアロマチック化合物を含むものである（例えば、ワイスらの論文（Weiss, U. et al., *infra*）の化合物13, 21, 22）。

“誘導体”は、本ツオンと構造的にかなり類似しているが、一つまたは複数の置換基を一つまたは複数の位置に有する（例えば、ブロックマンらの論文（Brockmann, et al., *infra*）に開示された化合物7および9と、個々で特許的に開示された化合物のヒドロキシ化、エステル化、アルキル置換および他の置換された誘導体を見よ）。なお、抗ウイルス性化合物の非限定的例を示すリストは付録Aに記載した。

水溶性媒体に可溶で、生理学的に許容な抗ウイルス性化合物の塩化物（Salts）は、特に好ましいものである。ここで、“塩化物”とは複合塩化物（complex salts）、例えば化合物23）とイオン性塩化物とを意味する。

第1表

既知レトロウイルスの一般物理的特性

核酸	同一のサブユニット（303-353）からなる直鎖状ポリヌクレオチド単一鎖RNA（603-705）；5'末端（m ⁷ G ^{ppp} NmpNp）；ポリアデニル化3'末端；3'および5'末端に隣り通し配列；ゲノム複合体にcRNA塩基が付となる
タンパク質	約60%重量；gag、内在構造タンパク質；pol、逆転写酵素；env、エンベロープタンパク質
炭水化物	約4%重量；エンベロープタンパク質に結合
物理化学的特性	シオ密度1.16-1.18g/ml、塩化セシウム密度1.16-1.21g/ml；脂質溶解、洗剤、および熱による不活性化（56°C、30分）；UVおよびX線照射に対する高抵抗性
形態	球状外形に包まれたウイルス体（直径80-120 nm）、液層突起物（直径8 nm）、コア殻（ヌクレオシド）と複合体を形成するリボヌクレオタンパク質を含む20個体カプシド

“生物学的媒体保持物品”とは、ここでは非限定的なもので、血液袋、真空血液チューブ、試験管、研究用ガラス器具、原液、コンドームおよび他の装置や製品で、生物学的媒体を採取、保持、保存または加工するためのものを意味する。

“レトロウイルス”とは、ここではRNAゲノムとRNA-依存DNAポリメラーゼ（逆転写酵素）酵素活性とを含むウイルスを意味するものである。すべてのレトロウイルスは共通の形態学的、生物化学的および生理学的特性を有し、一つのウイルス属としてまとめられる。これらのパラメータは第1表にまとめられた。この表は、ワイスらの文献（Weiss, R. et al. eds., Cold Spring Harbor Press, New York, 1984, p28）に記載されたものを引用した。

(以下、空白)

上記のレトロウイルスの特性に加えて、HIVのゲノムは少なくとも5つのタンパク質をコードし、これらのタンパク質はTAT、ART/TRS、3'-ORF、SORおよびRとして表わされる。

HTLV Iは少なくとも4つのタンパク質をコードするpXゲノムを含む（Solki et al. *Science* 228: 1532-1534, 1985）。

すべてのレトロウイルスは、全体的に共通する化学組成を有する。すなわち一般に、約60-70%のタンパク質、30-40%の脂質、2-4%の炭水化物および約1%のRNAを含む。レトロウイルス粒子のエンベロープは、細胞膜から分離され、全部でなくともその大部分の脂質はウイルス粒子の単一層エンベロープに位置している。

レトロウイルスの非限定的例は、フレンド白血病ウイルス（FV）、放射線白血病ウイルス（RadLV）、ネコ白血病ウイルス、トリ筋腫ウイルス、そしてヒトT-細胞リンパトロフィックウイルス属（HTLV I, II, IIIおよびIV；HTLV IIIはまたヒト免疫不全ウイルスまたはHIVと呼ばれている）である。

HTLV Iは、成人T細胞白血病およびHTLV II 毛状細胞白血病を引き起こす。

HTLV IVはシミアン免疫不全ウイルスに関係しており、エイズに罹ったアフリカ居住民のなかにおいて発見されたものである。HTLV IIIとの関係は、現在研究中である。

この明細書においては、特別に述べないかぎり、“ウイルス

ス”または“ウイルス性”は、“レトロウイルス”または“レトロウイルス性”の意味を含むものとして理解される。

本発明の抗ウイルス性化合物は、全血液または生物学的液体中に含まれるレトロウイルスおよび他のウイルスに感染したHIVの不活性化能を有するものである（すなわち、感染細胞からのウイルスの発生を阻害すると同時にフリーな状態のウイルス粒子の感染性を除去または実質的に減少させるもので、また細胞融合、すなわちフリーな状態のウイルスが存在しないにもかかわらず起こるHIV感染リンパ球と未感染リンパ球との間の融合を介した感染による増殖を阻害する）。

これらの化合物は、ウイルスに直接接触することによってウイルス不活性化特性を示す。この点はアジドチミジン（AZT）のような従来から既知の抗ウイルス性薬物が細胞内におけるウイルスの複製を阻害する効果を示すのと比べて異なるものである。

下記の実施例1に示すように、ヒペリシンは0.77 $\mu\text{g}/\text{ml}$ というような低濃度で、HIVを不活性化する。ヒペリシン処理は臨床における血液検査、例えばCBC、ヘマトグロビン、SMA12、その他の結果またはその実施に何ら影響を及ぼさない。また、いくつかの同一のまたは類似の成分を含む尿や唾液の一般臨床検査にも影響を及ぼさないものでなくてはならない。

本発明において用いられる抗ウイルス性化合物は、細胞毒性が低く、HIVまたは他のウイルスの感染性を阻害または阻止するのに必要な濃度を用いたとしても、細胞の生命力また

下記の実施例3に示すように、ヒペリシン処理は血液成分（例えば、血小板、赤血球、液相グロブリン、抗血友病因子、その他）の生物学的または物理的機能を破壊または顯著に減少させないであろうと思われる。さらに、ラビー（Lavia）らの米国特許出願一連番号084,008号（1987年5月10日出願）とメルエロ（Meruelo）らの一連番号172,064号（1988年3月23日出願）とに開示されたin vivo系でのマウスへのヒペリシン投与による実験にもとづいて、本発明の一つまたはそれ以上の抗ウイルス性化合物は、採取された血液に対して添加された場合に、その血液の被輸血個体に対して細胞毒性が生じないで、かつHIVまたは他のウイルスの感染性を顯著に減少させるか、あるいは終了させるだけの十分な量となるものでなければならない。

エイズ患者の血液から分離され、H9細胞上で増殖されたHIVは、37°Cで1時間、2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のヒペリシン処理によって完全に不活性化した。この不活性化はウイルス逆転写酵素活性（実施例1を見よ）を測定することによって決定された。また、それらのH9細胞増殖地から得たHIVは、0.77 $\mu\text{g}/\text{ml}$ というような少量のヒペリシン処理で、増殖地における複製能力を消失した。さらに、ヒペリシンの添加（200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ までの濃度）は、日常の臨床検査結果およびヘマトグロビンパラメーターに顯著な影響を及ぼすことはなかった。56-225 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のヒペリシンもまた、他のHIV感染方法であるHIV感染リンパ球と正常リンパ球との間における細胞融合を阻害した（実施例6を見よ）。シュードヒペリシンもまた、

は細胞に対しては実質的に影響を及ぼさない（このことは、ヒト細胞を含む哺乳動物の細胞に対してin vivo系実験およびin vitro系実験のどちらでもあてはまる）。従って、ヒペリシン処理または本発明の他の抗ウイルス化合物は輸血に用いられるヒトおよび動物血液産物、例えば赤血球、血小板、新鮮凍結血漿、血漿凝固因子、その他の活性または利用性に影響を及ぼすものではない。

HIV、HTLV-1に関連したレトロウイルスが感染された個体の血液に見いだされることが知られている。

また、HTLV-1は、米国および日本において、T-細胞白血病や神経性疾患などのヒトの病気を引き起こすことが知られている。同様な神経性疾患は山羊（例えば、両翼ウイルスによって起こる山羊関節炎）およびヒツジ（例えば、ビスナウイルス）でも起こることが知られている。しかし、HTLV-1の試験は現在のところ採集した血液では行なわれない。一方、本発明の抗ウイルス性化合物は、HIVとHTLV-1との類似性にもとづいて、また抗レトロウイルス剤としてのアロマチックポリサイクリックジエーテル化合物の効果にもとづいて、生物学的液体、特にヒトおよび家畜血液、その他の中に存在するHTLV-1と他のレトロウイルスを不活性化させるのに有効なものであることが期待できる。よって、輸血のために採取した血液は、例えば感染を阻害するのに十分な量のヒペリシンを、血液ドナーから採取した血液に用いられる容器に添加することによって、血液採取と同時に感染性ウイルスを除去することが可能である。

効果的であるが、実質的にヒペリシンよりも高い濃度を必要とした（しかし、細胞毒性からみれば、より許容できる）。

与えられた生物学的液体中に存在するウイルスの感染を効果的に阻害するのに必要な抗ウイルス性化合物の量は、その化合物を単独で使用するか、または2つまたはそれ以上の化合物の組み合わせによって達成できる。

もちろん、標的ウイルスの感染特性を顯著に減少させるか、取り除くであろう本発明の抗ウイルス性化合物の最小有効量を用いることが求められる。また、一つ、二つまたはそれ以上の抗ウイルス性化合物を、生物学的液体中に存在する種々のウイルスを不活性化するために同時に用いることができよう。さらに、特定のウイルスに対して阻害効果を示すような抗ウイルス性化合物またはもっとも効果的な抗ウイルス性化合物は従来から既知の日常的な実験手法によって確かめられよう。

本発明の抗ウイルス性化合物は、抗凝固剤（クエン酸、リン酸、アキシトローソスおよびアデノシン-CPD-A）と同様な方法によって血液袋または他の血液保存容器に適用することができよう。

本発明の抗ウイルス性化合物を血液袋に入れる方法としては、輸血の前日などに事前に血液袋に注射して入れる方法や、サテライトバッグまたはサテライトエクステンションバックのような分離装置によって取り込ませる方法が考えられる。この分離装置に関しては、米国特許第4,60,013号（1987年6月2日発行）および第3,874,384号（1975年4月1日発行）

に開示されている。このようにして、本発明の抗ウイルス性液体は、血液袋が血液で満たされた後にサナライトまたはチューブから血液袋に供給されることが可能である。

本発明の抗ウイルス性化合物は、内側物質がポリビニルクロライド、ポリエチレン、エチレンエチルアクリレート、エチレンビニルアセテートおよび他の適当なポリマー及びプラスチック（プラスチック化またはプラスチック化せず）などのような素材によってなる種々の形の血液袋に適用できる。

ウイルスの感染性を阻止または顯著に減少させるのに十分な量の抗ウイルス性化合物は、血液、血液成分または他の生物学的液体を前記容器に取り込ませる前または後に、取り込ませることができよう。もちろん、抗ウイルス性化合物が生物学的液体を採取または保存する容器に添加されるべき時期は、ある特定の生物学的液体を取り扱う人がもっとも安全な状況におかれるように、可能なかぎり早い段階で加えられておくほうがよい（すなわち、ウイルス汚染がひどい液体を添加する前）。

生物学的液体を入れたり、運んだり、保存したり、加工または取り扱うためのほとんどすべての容器、装置または器材の内側は、その液体に関して直接ウイルスの感染性を試験する場合を除いて（間接的に、例えばウイルスに対する抗体によって検知または測定する場合は異なる）、本発明の抗ウイルスの効果的量が供給されることが可能である。

生物学的液体を取り扱う場合のすべてにおいてではないが、血液の採取または患者への輸血に用いられる血液袋を滅菌し

てから用いることが可能である。

本発明の抗ウイルス性化合物は、HIVまたは他のレトロウイルスまたはウイルスに接触した器具、装置や器材（例えば、クロマトグラフィ装置、研究用器材など）の汚染を除去するために用いられることが可能である。

抗ウイルス性化合物を、ウイルスの感染性を阻止または顯著に減少させるのに十分な量だけ血液真空保存チューブまたは容器に加えるにことができよう。

抗ウイルス性化合物は、本発明において特許された形で、または薬学的に許容な担体または希釈剤とともに持ち入れられることが可能である。そのような許容物質の非限定的な例として、炭水化物、多糖類、ポリボレンドリコール、水、エタノール、イソプロパノール、アルブミンおよび（または）他の血液タンパク質成分、例えば低密度リポタンパク質、高密度リポタンパク質およびこれらの血清タンパク質が結合または付着した脂質があげられる。この脂質としては、ホスファチジルセリン、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミンおよびトリグリセリドのような中性脂質があげられる。さらに脂質担体として、トコフェロール、レチノイクアノールおよびシクロデキストランがある。

抗ウイルス性化合物（またはそれらの混合物）は、液体、粉末、錠剤、カプセルまたは生物学的液体に添加されることが可能である。そのような生物学的液体に可溶性の処方に関しでは、ラビイ (Lavie) らの米国特許出願一連番号第084,008

号（1987年8月10日出願）に開示されている。好ましくは液体の形で添加するのがよい。なぜなら、生物学的液体に対してもっとも溶解性が高いからである。

特定のウイルス（またはそれらの組み合わせ）の感染特性に対して、顯著な減少効果または完全な阻害効果を示すような抗ウイルス性化合物の有効量は、標的とするウイルス、処置すべき液体の量、処置時間等によって変動するものである。

本発明の抗ウイルス化合物を一種または複数用いて生物学的液体を処置して顯著な減少効果または完全な阻害効果を示すようにするための最小処理時間は約5分間である。

一般に、全血液の一単位あたりに含まれるHIVのようなレトロウイルスの感染特性を完全に除去するために持ちいられる抗ウイルス性化合物の量は、100mgまでで、好ましくは1mgと約10mgとの間である。例えば、この程度の量のヒペリシンを静脈輸血または血液投与した場合、なんら輸血されたヒトに顯著な毒性やトランスは生じなかった。マウスにおいても、ヒペリシン100mgを静脈投与しても、なんら副作用は認められなかった。この量は、ヒトに換算すれば25mg投与されたこと、または全血液1単位当たり2.5μg/mlのヒペリシンを輸血によって投与されたことに相当する。さらに、例えばマウスに10%エタノール含有リン酸緩衝液（PBS）に含まれる1.2mgのヒペリシンを投与しても致死効果は求められなかった。（生物学的液体には、顯著な減少効果または完全な阻害効果を示すようにするための最小量を加えるのがよい。この最小量は従来から既知の日常的な実験によ

って容易に求められよう。）

よって、本発明の方法は抗ウイルス性および（または）抗レトロウイルス性効果を示す量の抗ウイルス性化合物を生物学的液体とともにインキュベートすることを含むもので、抗ウイルス性抗体は、ヒペリシン、シュードヒペリシン、異性体、同族体、類似体、誘導体、またはそれらの組み合わせたもの（付録Aに示したように）からなる群から選択されるもので、これによって生物学的液体中に存在するウイルス（特にレトロウイルスおよびHIVを含む）の感染特性を除去または顯著に減少させるものである。

本発明の方法実施に好ましく用いられる抗ウイルス性化合物であるヒペリシンとシュードヒペリシンとは、ラビイ (Lavie) の米国特許出願一連番号第084,008号（1987年8月10日出願）においてヒペリキウム属 (the family Hypericum) の植物からの抽出によって得ることができるとが開示されている。また、ヒペリシンは化学合成によっても得ることが可能で、カメロン (Cameron) らの文献 (Cameron et al., *Austral. J. Chem.*, 29: 1509, 1976) とスピツナー (Spitzner) らの文献 (Spitzner, D., *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.*, 16: 46, 1977) に開示されている。それらの化合物の異性体、同族体、類似体、誘導体および塩は、従来から既知の方法によって得ることが可能であろう。付録Aに示された抗ウイルス性化合物は、国立予防衛生研究所 (N.I.H., Bethesda, MD) にある国立癌研究所から入手可能である。

本発明の実施(例えば、ヒトまたは動物に投与または輸血のために採取・保存された血液産物または全血液中に存在するウイルスの不活性化)に用いられる生物学的液体のための採取、保存および運搬用容器(例えば、血液袋、真空運搬および保存用チューブ、その他)は、多くの病院医薬品業者から入手可能である。このような業者の例として、テルモ(東京)、バクスター・ハイランドトラベノール(Baxter Hyland-Travenol, Deerfield, IL)、アメリカンホスピタルサプライ会社(American Hospital Supply Corp., Evanston, Illinois)などがある。例えば、血液保存袋はバクスター・ハイランドトラベノールから購入できる。また、真空血液保存チューブはベクトン・ディックソンから商品名バキューエーター[®]として購入できる(Becton-Dickinson, VACUTAINER[®], Rutherford, N.J.)。同様の保存及び採取装置は、多くの業者から入手可能であろう。

生物学的液体に存在すると思われるウイルスまたはレトロウイルスを不活性化することに用いる場合、それらのウイルスまたはレトロウイルスに対する不活性化効果を示す抗ウイルス性薬物の濃度は、約0.001 μ g/mlおよび約1000 μ g/mlおよび好ましくは20 μ g/mlと約200 μ g/mlの範囲内の幅広い範囲にわたる。

本発明の化合物は、感染生物学的液体にさらされたり、その液体をこぼしたりした場合に、それらによる汚染を取り除くために用いられる。ペーパータオル(エル、エヌ、アイ(L.N.I. CORP., Keyport, NJ)から入手可能)または他

の衛生ワイプに浸透させることが可能であろう。また、生物学的液体に接触したであろう注射針やその他の器具を破壊するために用いる一時的保存用の容器に抗ウイルス性化合物を添加して、存在すると思われるウイルス及び(または)レトロウイルスを不活性化させることが必要であろう。

本発明は、ウイルス及び(または)レトロウイルス感染の性交による伝播を阻止することにも利用可能である。この態様では、雄的ウイルス(またはレトロウイルスおよび特にHIV)を不活性化させるための抗ウイルス性化合物の効果的な量を、避孕器具、例えば、コンドーム、ペッサリーなどの表面に塗布したり、または避妊用フォーム、座薬、ゼリーなどに加える。抗ウイルス性化合物は、好ましくは前記避妊器具を用いる際に利用される潤滑剤および殺精子剤にも同様に、かつ同時に含まれるのがよい。

また、本発明の抗ウイルス性化合物の効果的な量を、潤滑ゼリーおよび(または)潤滑剤の成分として取り込ませることもできる。

抗ウイルス性化合物は、コンドームの表面に塗布される既知の潤滑剤および殺精子剤組成物とともに混合されてコンドームに取り込まれ、例えば性交中に陰周に存在すると思われるHIVまたは単純ヘルペスウイルスを不活性化することができよう。コンドームは革陰茎に、性的接触によるHIVの伝播を阻止する手段として推奨されている。しかし、コンドームは相対的に高失敗率を有することから、HIV(または他のレトロウイルス性またはウイルス性)感染を完全に防ぐこ

とは不可能である。ヒペリシンは、0.77 μ g/ml(0.00077%, 重量/容量)の低い濃度で、フリーのウイルス粒子を感染細胞に存在するウイルスと同様に不活性化させるので、腫または第九分節物によって抗ウイルス性化合物が希釈されたとしても、抗ウイルス性及び(または)抗レトロウイルス性効果は損なわれない。

コンドームや膈状ペッサリーのような避妊用の膜状製品は、色々な化学合成品、天然物または天然物と化学合成品との混合物などから作られており、例えば材料として、ニルヘノキシルポリエチオキシエタノールラタックスゴム、プラスチック、コラーゲンまたは羊胃膜などからなり、幅広く利用されている。多くの場合、潤滑剤組成物は、例えばジメチルポリシロキサンまたは他の表面潤滑剤または乳剤と同様に、ポリエチレングリコール(分子量400)、ニルフェノキシポリエチオキシエタノール(これはまた殺精子特性を有する)と他のポリエチオキシレートニルフェノール、例えばジトリプロピルフェノキシポリエチオキシエタノールで、プロピラタックスまたはコンドームの表面に存在する。既知の潤滑ゼリーまたは殺精子座薬はポリエチレングリコール(MW<400)と殺精子剤、例えばトリイソプロピレンフェノキシポリエチオキシエタノール、セチルブライジニウムブロマイドまたはデカエチレングリコールノモロウレートが含まれており、商業的に入手可能である。本発明の抗ウイルス性化合物は、ペッサリー及びコンドームの潤滑成分として、または潤滑クリームおよびゼリーの成分として取り込まれるこ

とによって、HIVまたは単純ヘルペスウイルスによる感染からの保護手段となる。精液中に含まれるHIVに対するヘパリン利用の効率は、実施例4に示した。コンドームの潤滑剤成分として取り込まれたヒペリシンの効果は、下記の実施例4に記載したようにライエットマイザーらの文献(Rietmoljer et al., *in vitro*)記載にもとづいた性交シミュレーションインビトロ(in vitro)モデルによって評価可能である。実施例1に示されたデータをもとにして、ヒペリシンは0.77 μ g/ml以上の濃度で、精液中に含まれるウイルスの感染性を完全に除去すると思われる。他の抗ウイルス性化合物(例えば、付録Aに記載したように)もまた、それぞれの化合物または混合物の特異的抗ウイルス性/抗レトロウイルス性活性にもとづいて同様に濃度で用いられることが可能であろう。

他の重要な態様は、動物におけるウイルス性およびレトロウイルス性感染と、そのような動物に対して汚染された血液または他の生物学的液体(例えば人工受精中における精子)の伝播とに対して戦うことを含むものである。抗ウイルス性化合物の効果的な量が容れられるべき生物学的液体に取り込まれるであろう。さらに、ヒトの健康に関連して記載された抗ウイルス性化合物を用いた予防剤のすべてが、ウイルスおよびレトロウイルスに関係した動物、例えばいぬ、猫、山羊、羊、牛、馬などの治療に用いることができよう。

本発明の詳細は、以下の実施例によって授けられるが、本発明はそれに限定されることはない。

実施例1：血液および他の体液に含まれるHIVを不活性化させるヒペリシン(Hy)およびシュードヒペリシン(Ps)

HIVの不活性化に対する本発明の化合物の効果を示すために、血液をHIV血清(+)患者から採取し、その血液を様々な濃度のヒペリシンおよびシュードヒペリシンとともに37°C、1時間処理し、そして未感染H8細胞とともに増殖中でインキュベートした。

その後、米国特許出願一連番号第084,008号(1987年8月10日出願)および第172,064号(1988年3月23日出願)に開示されたようにして逆転写酵素活性を決定する。その結果は第1図に示す。

第1図は、感染細胞からHyが0.77μg/mlおよびPsが100μg/mlの範囲内で濃縮されて単離されたHIVの不活性化を示すものである。結果は第1図に示されている。

第1図では、□印は、ヒペリシン処理されたHIVを表わし、+印はシュードヒペリシン処理されたHIVを表わす。第1図に見られるように、Hy濃度が2.5μg/ml以上もしくはPs濃度が約100μg/mlでは、ウイルスの逆転写酵素活性は認められなかった。ウイルスの逆転写酵素活性の不活性化は、この酵素を直接阻害した結果から生ずるものではなく、同様に鳥痘原ウイルスまたはマウス白血病ウイルスの両方から得た複製逆転写酵素にたいしても何ら酵素活性に対する効果は認められなかった。さらに、0.77μg/ml以下のヒペリシン処

理で、H9細胞増殖地から得たHIVの一部は、増殖での複製能力を喪失した。この結果は第2図に示した。この結果は、ヒペリシンがウイルス粒子または細胞が存在している場合を除いて、cDNAを作り出すウイルスの逆転写酵素の活性を直接阻害するものではないことを示している。

実施例2：ヒペリシンが血液および他の体液に対する一般的な臨床試験結果に影響を及ぼさないことについて

正常な2個体から血液を真空チューブに採取し、試料(それぞれ同じものを3つ用意)とした。ひとつの一般の真空チューブには10%エタノール、40%プロピレングリコール、50%水にヒペリシンを溶解して最終濃度がヒペリシン0.1μg/ml血液となるようにする。第2の真空チューブの組には、最終濃度がエタノール0.1%、プロピレングリコール0.04%となるようにする。第3の真空チューブの組は、未処理の対照とした。ヒペリシン処理および未処理の試料を一般血液化学検査、完全血液値(complete blood count)、および凝集状態等の臨床検査に供した。異なる2個体に対するこれらの血液パラメーターにもとづいた試験結果を第2表および第3表に示した。

(以下、空白)

第2表

全血液へのヒペリシン添加・一般血液化学およびヘマトロジックパラメーターに対する効果の欠如

第1試料 "LL"	対照群	0.1mg/ml	1.0mg/ml
WBC/mm	8.3	8.1	8.0
リンパ球(lymph)	34.5%	34.9%	33.9%
好中球(neut)	5.0%	4.2%	5.5%
好中球(neut)	60.5%	60.9%	61.6%
Hct	46.6%	46.7%	46.7%
Hb(g/dl)	15.6	15.5	15.0
MCV	91.2	91.0	91.1
MCH	30.5	30.8	30.6
MCHC	33.5	33.8	33.6
血小板($\times 10^{-3}$)	323	321	329
ESR mm/hr	3	5	4
PT	10.8/10.8	10.8/10.8	10.8/10.9
APTT	23.2/23.3	23.1/23.4	23.1/23.3
Na ⁺ (mEq/l)	142	140	137
K ⁺ (mEq/l)	4.2	4.2	4.3
Cl ⁻ (mEq/l)	106	106	106
CO ₂ (mEq/l)	28	28	28
BUN(mEq/l)	13	13	12
クレアチン(mg/dl)	0.9	0.9	0.9
グルコース(mg/dl)	107	107	105
ビリルビン(mg/dl)	0.8	0.8	0.8
ビリルビン(%)	0.0	0.1	0.1
尿酸(mg/dl)	9.6	9.7	9.6
アルカリホスファターゼ(U/L)	74	78	79
SOOT(U/L)	16	19	15
LDH(U/L)	143	154	153
全タンパク質(g/dl)	7.4	7.5	7.5
アルブミン(g/dl)	4.8	4.8	4.8
Ca ²⁺ (mg/dl)	10.0	10.1	10.2
フェスフェート(mg/dl)	3.6	3.7	3.6
コレステロール(mg/dl)	249	255	258

第3表

全血液へのヒペリシン添加・一般血液化学およびヘマトロジックパラメーターに対する顕著な効果の欠如

第1試料 "LL"	対照群	0.1mg/ml	1.0mg/ml
WBC/mm	6.9	6.7	6.4
リンパ球(lymph)	32.8%	33.1%	33.0%
好中球(neut)	3.1%	4.9%	5.2%
好中球(neut)	63.1%	62.0%	62.8%
Hct	38.8%	37.8%	37.3%
Hb(g/dl)	13.3	13.0	12.9
MCV	91.4	91.4	91.3
MCH	31.3	31.4	31.6
MCHC	34.2	34.4	34.6
血小板($\times 10^{-3}$)	342	317	317
ESR mm/hr	1	1	1
PT	11.7/11.7	11.6/11.6	11.7/11.7
APTT	27.7/27.7	27.2/27.3	27.9/27.8
Na ⁺ (mEq/l)	140	140	141
K ⁺ (mEq/l)	4.5	4.4	4.5
Cl ⁻ (mEq/l)	109	108	108
CO ₂ (mEq/l)	27	27	27
BUN(mEq/l)	10	9	8
クレアチン(mg/dl)	0.6	0.7	0.6
グルコース(mg/dl)	98	96	95
ビリルビン(mg/dl)	0.7	0.5	0.6
ビリルビン(%)	0.0	0.1	0.1
尿酸(mg/dl)	4.4	4.2	4.1
アルカリホスファターゼ(U/L)	51	51	52
SOOT(U/L)	17	15	14
LDH(U/L)	115	110	97
全タンパク質(g/dl)	6.4	6.4	6.3
アルブミン(g/dl)	4.4	4.5	4.4
Ca ²⁺ (mg/dl)	9.6	9.5	9.5
フェスフェート(mg/dl)	3.2	3.0	3.1
コレステロール(mg/dl)	123	133	131

第2表及び第3表の結果から理解されるように、1.0及び0.1 $\mu\text{g/ml}$ の濃度のヒペリシンでは、調べた検査項目（パラメーター）のどれをとっても顕著な効果は示されなかった。高濃度のヒペリシンを用いて簡便的に入手した研究用マウスの血液に対して日常の臨床検査およびヘマトロジックパラメーターに対するヒペリシンの影響を評価するための類似の実験を行った。血液試料を8つの試料に分けて、それぞれの試料に、2.5 $\mu\text{g/ml}$ 全血液から200 $\mu\text{g/ml}$ 全血液のヒペリシン濃度範囲内において、それぞれ異なる濃度のヒペリシンで処理した。

その結果を、第4表および第5表に示す。
(以下、空白)

第5表

正常マウスの血液化学におけるヒペリシンの効果

ヒペリシンの濃度	0	200 μg	500 μg	750 μg	1000 μg	1500 μg	2000 μg	3000 μg	4000 μg
試料	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Ca ²⁺ (mg/dl)	6.7	6.6	4.6	6.6	6.6	6.6	6.6	6.6	6.7
リン (mg/dl)	8.1	7.9	7.9	8.0	8.2	8.0	8.3	8.1	8.2
グルコース (mg/dl)	110	110	112	111	113	114	113	113	113
BUN (mg/dl)	18	18	18	18	18	18	18	18	18
胆酸 (mg/dl)	2.5	2.6	3.6	3.6	3.2	3.1	3.0	2.8	2.9
Na (mg/dl)	151	148	145	147	149	146	148	144	148
Cl (mg/dl)	114	113	110	111	113	113	111	112	113
クレアチン (mg/dl)	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.3	0.3	0.4
コレステロール (mg/dl)	169	147	135	137	133	131	132	130	135
トリグリセリド (mg/dl)	90	83	92	89	92	87	80	84	87
胆汁 (mg/dl)	225	221	211	215	220	216	220	221	219
全タンパク質 (g/dl)	7.3	5.9	6.8	6.4	6.5	6.1	6.3	6.3	6.5
アルブミン (g/dl)	3.9	2.5	3.3	2.9	3.0	2.7	3.0	3.0	3.2
トランスフェリン (g/dl)	3.4	3.4	3.5	3.5	3.5	3.4	3.3	3.3	3.3
全ビリルビン (mg/dl)	0.8	0.7	1.1	1.1	1.0	1.0	0.9	0.9	0.8
アルカリホスファターゼ (IU/L)	139	141	139	140	140	138	138	140	140

第4表
マウス正常血液におけるヘマトロジックパラメーターに対するヒペリシンの効果

ヒペリシンの濃度	0	200 μg	500 μg	750 μg	1000 μg	1500 μg	2000 μg	3000 μg	4000 μg
試料	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Ca ²⁺ (mg/dl)	4.8	4.7	4.4	4.6	4.9	5.0	4.9	4.7	4.7
リン (mg/dl)	35.1	37.7	37.5	34.6	38.1	38.4	38.1	37.9	37.9
グルコース (mg/dl)	12.8	12.9	12.8	12.7	12.8	12.2	12.8	12.8	12.3
BUN (mg/dl)	9.1	9.2	10.4	10.6	10.1	9.9	9.6	9.2	10.1
胆酸 (mg/dl)	1.6	1.5	2.6	0.6	0.8	0.7	1.4	2.3	0.8
クレアチン (mg/dl)	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
コレステロール (mg/dl)	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5
トリグリセリド (mg/dl)	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5
胆汁 (mg/dl)	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5
全タンパク質 (g/dl)	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5
アルブミン (g/dl)	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5
トランスフェリン (g/dl)	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5
全ビリルビン (mg/dl)	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5
アルカリホスファターゼ (IU/L)	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5

第4表および第5表に示す結果から、200 $\mu\text{g/ml}$ の濃度では対照群と比較してヘマトロジックパラメーターに対する顕著な効果は認められなかった。

上記の実験結果をもとにして、また以下の実験から得た結果の共通に固定された臨床上のパラメーターに対しては効果が認められないことがわかった。

実験方法について述べる。まず、正常個体から尿を採取して3つの試料に分ける。そのうちの1つの試料を試料1として、何ら処理をしない対照群とする。他の2つはそれぞれ試料2および試料3としてヒペリシンを添加し、ヒペリシンの最終濃度が試料2では1.0 $\mu\text{g/ml}$ 、試料3では2.5 $\mu\text{g/ml}$ の濃度となるようにする。これらの試料1ないし3を比重、細胞数、タンパク質、グルコース、クレアチン測定を含む日常の尿検査をすることにした。その結果、対照群とヒペリシン処理との間で、顕著な差がないと思われる。

髄液 (cerebrospinal fluid ; CSF) についても類似の実験を行った。CSFは、腰髄穿刺によって個体から採取した。この採取されたCSFを3つに分けて試料とし、そのうちの1つを試料1を対照群とした。また、他の2つはそれぞれ試料2および試料3としてヒペリシンを添加し、ヒペリシンの最終濃度が試料2では1.0 $\mu\text{g/ml}$ 、試料3では2.5 $\mu\text{g/ml}$ の濃度となるようにした。これらの試料1ないし3は、全タンパク質、グルコースおよび細胞数について検査された。その結果、対照群とヒペリシン処理との間で、顕著な差がないと思われる。

さらに血液、尿およびCSFについて、これらの体腔に対する抗ウイルス性化合物の効果を細菌学的に調べるための追加実験を行なった。細菌または菌類によって感染されたと思われる患者について調べた。そのような患者の体腔は、菌配のように3つの試料に分けた。そのうちの1つを試料1を対照群とした。また、他の2つはそれぞれ試料2および試料3としてヒペリシンを添加し、ヒペリシンの最終濃度が試料2では0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、試料3では1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度となるようにした。これらの3つの試料に関して、細菌および菌類の増殖についての細菌学的検査の結果を比較した。その結果、対照群とヒペリシン処理とのもので、顕著な差がないと思われる。

実施例3：輸血に用いられるヒト血液成分に含まれるHIV、HTLV-1、および他のヒトレトロウイルスを不活性化するためにヒペリシンを用いることについて

米国では、HIVに感染された成分輸血によって1,000以上のHIV感染が報告されている。以下の実験は、ヒト血液成分に存在するHIVを不活性化させるのにヒペリシンを用いることの容易性について明らかにするものである。血液の1/2単位の試料(250ml)を正常血液提供者から採取した。試料1は、なんら処理せずに対照群とした。また、試料2はヒペリシンの最終濃度が2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ となるように、血液袋にヒペリシンを625 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 加入した。それぞれの試料から10mlの血液を採取して、HIVおよび肝炎ウイルスに関する型および交差性(cross matching)、タームス試験、ウイルス血清学的

いて既知の方法によって行なった。

実施例4：HIVおよび他のヒトレトロウイルス不活性化のためにコンドームおよび受精精子細胞液にヒペリシンを用いることについて

新鮮な精液を正常ドナーから採取して、その精液を培養H9細胞から得た感染力のあるHIV試料(10⁴感染単位/ml)と混合した。そして、この感染精液試料をヒペリシン処理した。このときのヒペリシン濃度は、0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ないし2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の範囲内である。5分間のインキュベーション後、それぞれの試料の一部をH9細胞とともに培養に添加した。適当な時間(例えば、37°Cで1時間)経過後、逆転写酵素活性について調べた。実施例1のように、0.7 $\mu\text{g}/\text{ml}$ またはそれ以上のヒペリシンで、完全にウイルスの感染性を完全に不活性化することと思われる。また、同様の実験を、商業的に入手可能なコンドームの受精精子潤滑剤または胎用受精剤とヒペリシンとを混合することによって行なった。

コンドームにヒペリシンを取り込んだ場合の効果は、ライトマイヤー(Rietmeijer)らのシミュレーションセックスによるインビトロ(in vitro)系の実験によって評価することができる(Rietmeijer et al., *J. Amer. Med. Assoc.*, 239: 1831-1833, 1988)。すなわち、HIVを表面に塗布されたコンドーム(対照群はHIVを含まない培養液を塗布したコンドーム)を人工ペニスに被せて、人工ペニスをガラス製シリンダーに挿入する。シミュレーションセック

検査を行なった。試料1と試料2とを同時にモリソンらの文献(Mollison, P.L., et al., *Blood Transfusion in Clinical Medicine*, 8th Ed., Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1987)に記載されたような一般的方法によって、濃縮赤血球(RBC)、濃縮血小板、新鮮血漿を得た。濃縮赤血球は、CPD(クエン酸・リン酸・デキストロース)に28日間保存し、モリソンらの方法(前掲、812ページ)にもとづいて生体内(in vivo系)におけるRBCの生存力および活性について調べた。さらに、ヒペリシン処理したRBCは、⁵¹Crによって標識(前掲、807-808ページ)し、生体系における自然的な赤血球生存について調べた(モリソンら、前掲、102-105ページにもとづく)。ヒペリシン処理したものと未処理のものとは、顕著な差が認められなかった。このことは、哺乳類動物およびヒトの細胞に対して、アロマチックポリサイクリックアミンの毒性が欠如していることによると思われる。ヒペリシン処理した血液の赤血球生存率は正常範囲内と思われる。試料1(対照群)および試料2(ヒペリシン処理)の濃縮血小板は、室温で調製および保存され、5日間にわたって保存した(モリソンら、前掲、807ページにもとづく)。それぞれの試料について、ADP、エピネフリン、トロンビン、コラーゲンおよびリステチンに対する応答としての血小板凝集について強制的な検査を行なった。試料1および2から得た新鮮冷凍血液に関しても同様の実験を行ない、標準的な凝集の指標として、プロトロンビン時間および活性化部分トロンボプラスチン時間を用

は人工ペニスをシリンダー内で上下移動させることによって、コンドームが破壊する直前または直後まで行なう。種々の濃度のヒペリシンを用いて実験し、それぞれの場合について試料をコンドームの外側および内側から採取する。採取した試料は、ウイルス逆転写酵素の活性とウイルス感染性について調べられる。このようにして、コンドーム使用時ににおけるヒペリシンによるHIV感染性の阻害が検討できよう。

実施例5：ヒペリシンによる感染細胞からのウイルス出芽阻止について

この試験は、ヒペリシンがウイルス感染細胞からのウイルス出芽を阻害することができるかを検討するために組まれたものである。

放射線白血病ウイルス(Morales, D., *J. Exp. Med.*, 149: 898-909, 1979; and Bach, R. G. et al., *J. Exp. Med.*, 160: 270-285, 1984)を産生するAQR(マウス白血病)細胞を種々の濃度の合成ヒペリシン($\mu\text{g}/\text{ml}$)とともに1時間培養した。その後、細胞をリン酸緩衝液で4回洗浄し、新しい培養で24または48時間培養した。上清を採取して15分間の遠心(1000 $\times g$)によって全細胞を沈殿させた。そして、再び上清を100,000 $\times g$ で1時間遠心させてウイルス粒子を沈殿させた。この遠心によって得られる残渣を逆転写酵素活性の測定に供した(測定方法は、米国特許出願一連番号第064,008号(8/10/87)および第172,064号(3/23/88)参照)。

逆転写酵素活性の測定結果は、第3図にプロットした。AQR細胞からウイルス出芽は、10 µg/mlのヒペリシンを用いた場合、24時間後(□)で完全阻害された。実際、出芽しないフリーのHIVウイルスとヒペリシンとをほんのわずかな時間、すなわち細胞に添加して遠心する間だけでもウイルス感染性は顕著な阻害が観察され、また10分、あるいは5分でも完全阻害が観察された。よって、HIV感染の広がりに関与するHIV感染細胞の能力を破壊するための最小インキュベーション時間は、前記測定における最小待ち時間としての24時間よりも少なくて済む。

実施例6: HyおよびPsによるHIV誘導胎状細胞形成阻害について

HIVの特徴の一つとして、標的細胞に結合し、かつ融合することである。HIVは、エンベロープグリコタンパク質gp120と、ヒトCD4表面抗原上の高親和性結合部位との特異的相互作用によって標的細胞に結合する。また、*in vitro*系でのHIV媒介細胞融合は、多核化巨大細胞または胎状細胞(syncytia)を形成する。*in vitro*系融合は、*in vivo*系でのウイルス侵入と同様な方法で起こる。

このようなHIVの胎状細胞形成能に対するHyおよびPsの効果については、以下の実験によって調べることができる。まず、HIV-1の場合については、標的細胞としての未感染Supr-1細胞(Walker, B.D. et al., *Proc. Nat. Acad. Sci. (U.S.A.)* 84: 8120-8124, 1987)と、HIVの単離

されたものであるIIIbに感染されたH9細胞(Popovic, M. et al., *Science* 224: 494-500, 1984)ととともに培養することによって行なった。HIV-2の場合については、標的細胞としての未感染H9細胞と、HIV-2の単離されたものであるR0D-2細胞に感染されたHUT78細胞(NIHから得ることが出来る(Depository Catalog, Reagent Program))ととともに培養することによって行なった。

感染細胞は、96穴プレート(10⁴細胞/穴(ウエル))となるように播種し、培養は10%牛血清含有RPMI 1640培養液を用いた。そして、PsまたはHyの希釈されたものを添加または添加せずに37°Cで30分間培養した。一つのウエル当たり1×10⁵の標的細胞を添加し、24時間後に胎状化した細胞を数のおよび質的に調べた。その結果は、第6表に示す。

(以下、空白)

第6表
化合物のHIV誘導胎状細胞形成阻害能力について

	ヒペリシンの活性 (濃度はナノグラムで示す)									
	1800	900	450	225	112	56	28	14	7	
HIV-1	0	0	0	0	0	0	3L	4L	4L	
対照群	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	
HIV-2	0	0	0	0	1B	3M	4L	4L	4L	
対照群	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	
HIV-1	0	0	0	0	3M	4L	4L	4L	4L	
エンベロープ	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	
対照群	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	

	シュードヒペリシンの活性 (濃度はナノグラムで示す)									
	3000	1500	750	375	188	94	47	24	12	
アッセイ HIV-1	1B	3M	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	
対照群	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	
HIV-2	2B	2B	3M	4L	4L	4L	4L	4L	4L	
対照群	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	
HIV-1	1B	3L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	
エンベロープ	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	
対照群	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	4L	

第6表では、胎状細胞の数、すなわち胎状細胞発生の程度を0ないし4の数字で表わした。すなわち、0は胎状細胞が認められない状態で、4は多数の胎状細胞が確認された状態を示す。

また、胎状細胞の大きさは、S(小さい)、M(中間)、L(大きい)で表わした。

上記第6表の結果から、ヒペリシンは56-225ng/mlの濃度で胎状細胞形成を阻害することが可能であった。一方、シュードヒペリシンはヒペリシンと同様の阻害効果を示すためには、ヒペリシン濃度の20-60倍の濃度を用いなくてはならない。

また、この実験ではHIV-1のIIIb型のエンベロープタンパク質のみを発現する細胞系統に対しても行なった。この細胞は、第6表ではHIV-1 envとして表わされている。このHIV-1 env細胞を指示した濃度のHyおよびPsで処理し、未感染Supr-1標的細胞とともに培養した。このような試験によって、ウイルス侵入過程の阻害を介してもヒペリシンはシュードヒペリシンよりも効果的であることがわかった(第6表)。

(以下、空白)

付 録 A

下記のリストは、ヒペリシン (hypericin) に類似の構造を持つ一連の化合物であり、生物学的液体に存在するウイルスに対して活性を有すると思われるものである。これらの化合物は米国の国立癌学会 (National Cancer Institute, Bethesda, MD) から入手可能である。またこれらの化合物の特性はワイスらの文献 (Weiss, U. et al. Progress in Chemistry of Organic Natural Products 52: 1-71, 1987) に記載されている。

1. シー・エー・エス登録番号 (以下、CAS No. と略す)
14343921

2. CAS No. 63336841

3. CAS No. 14642729

4. CAS No. 6336874

5. CAS No. 6941475

6. CAS No. 4478766

7. CAS No. 2013583

8. CAS No. 667914

9. CAS No. 434855

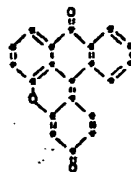
10. CAS No. 3438082

11. CAS No. 24541193

12. CAS No. 10393025

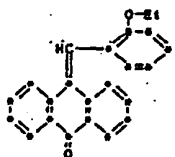
13. [NSC No. 123399-N]

19. [NSC No. 241039-I]

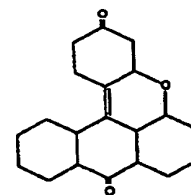
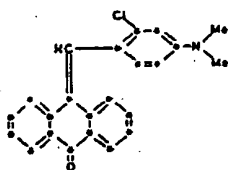


20. CAS No. 27373468

21. [NSC No. 308787-V]



22. [NSC No. 308805-Q]



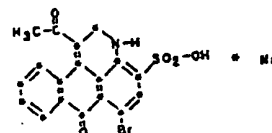
14. CAS No. 69344830

15. CAS No. 33043419

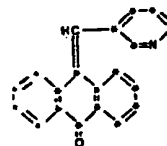
16. CAS No. 71205384

17. CAS No. 52236541

18. [NSC No. 231579-Y]



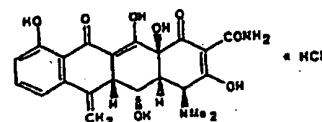
23. [NSC No. 308814-Z]



24. CAS No. 1434934

25. ロンドマイシン (Rondmycin)、2-ナフトセネカルボキサミド、

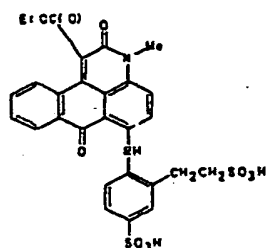
NSC No. 356465-U



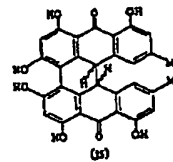
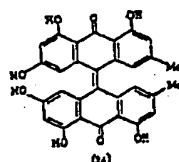
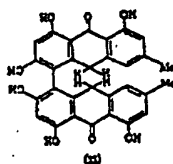
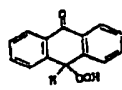
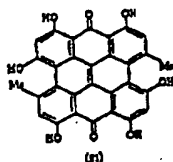
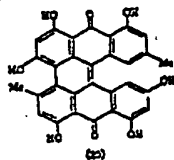
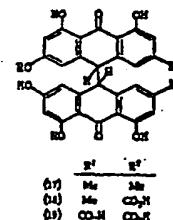
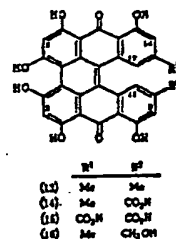
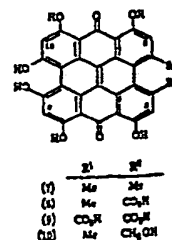
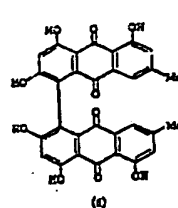
26. CAS No. 81092844

27. CAS No. 81092855

28. [NSC No. 507458-S]



さらに、本発明のアロマチックポリサイクリファジオンとの類似性により、下記のアンストラキノ化合物が生物学的液体中に存在するウイルスに対して活性を示すと考えられる。これらの化合物6-10および13-25の特性は、バンクスの論文 (Banks, H.J. et al., Aust. J. Chem. 29: 1509-1521, 1976) に記載されている。



前記化合物6-10および13-25の合成及び(または)単離は、以下の文献に記載されている。

6. スキリン: Austerhoff, H. et al. Arch. Pharm. 295: 850, 1962.
7. ヒベリシン: Brockmann, 前掲。
8. ヒベリシンモノカルボキシル酸: Thompson, R. H. Naturally Occurring Quinones, 2nd Ed. Academic Press, London, 1971; Banks, H.J. et al., Insect Biochem. 3: 139, 1973; Brown, K. S., Chem. Soc. Rev. 4: 263, 1973; Anslow, W. K. et al., Biochem. J. 34: 159, 1940.
9. ヒベリシンジカルボキシル酸: Banks, H.J. et al., Aust. J. Chem. 29: 1509-1521, 1976.
10. Banks et al., 前掲。
13. プロトヒベリシン:
14. Banks et al., 前掲。
15. Banks et al., 前掲。
16. Banks et al., 前掲。
17. エモジンピアンスロン: Anslow, W. K. et al., 前掲。
18. エモジン酸ピアンスロン: Anslow, W. K. et al., 前掲。
19. Anslow, W. K. et al., 前掲。
20. Banks et al., 前掲。
21. イソヒベリシン: Stoglich, W. et al., Angew.

Chem. Ind. Ed. Engl. 11: 79, 1973.

22. 10-ペロキシ-9-アンスロン: Bedford, C. T., J.

Chem. Soc. C.: 2341, 1968.

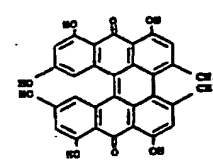
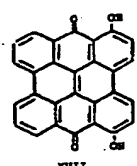
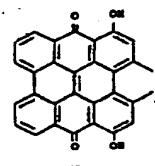
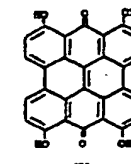
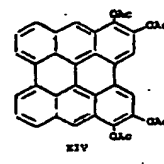
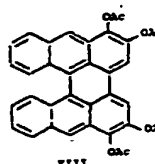
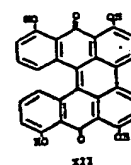
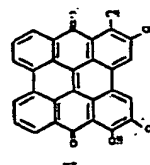
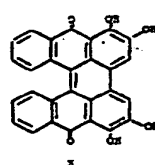
23. ペニシリオブレン: Banks et al., 前掲。

24. ヒペリコージヒドロジアンスロン: Banks et al.,
前掲。

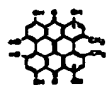
25. Banks et al., 前掲。

(以下、空白)

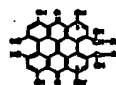
さらに、下記の化合物もまた、ヒペリシンと関連しており、
抗ウイルス活性を有すると考えられる。



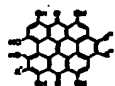
上記の化合物の合成に関しては、ブロックマンの文献 (
Brockmann, H. M., Progress in Organic Chemistry,
Vol. I, Cook, J. W. ed., p64-82, 1952) に記載されている。



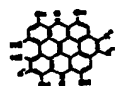
$C_6H_5CO_2$ instead of OH



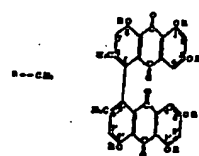
$R = CH_3$



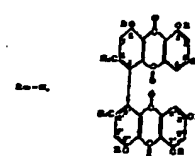
$R^1 = H, R^2 = CH_3$



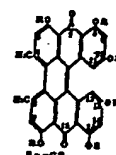
OH, $R^1, R^2 = H$



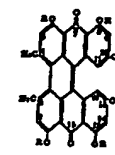
$R = CH_3$



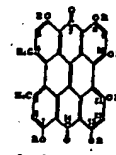
$R = H$



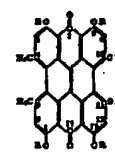
$R = CH_3$



$R = H$



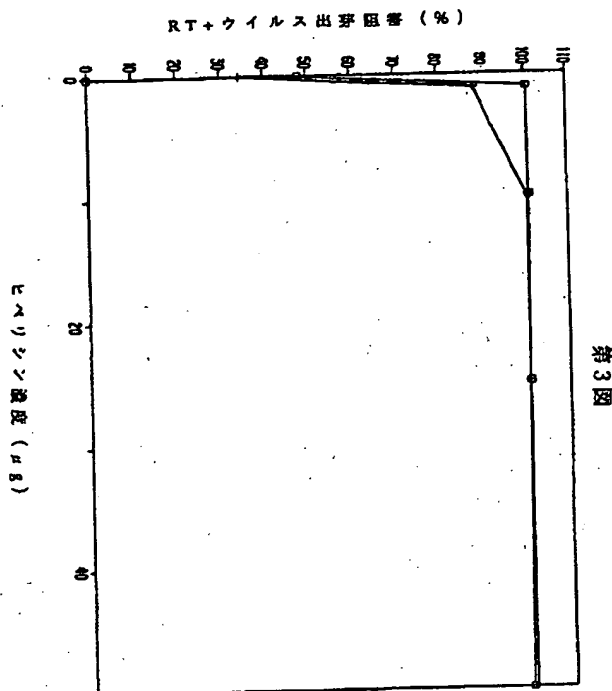
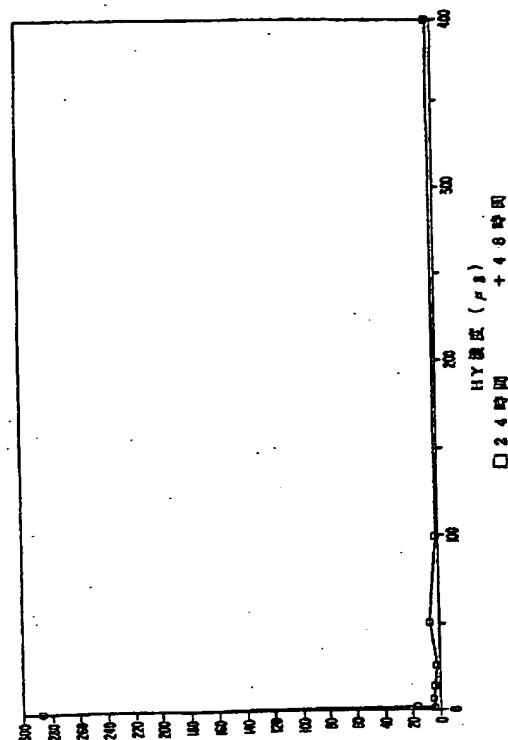
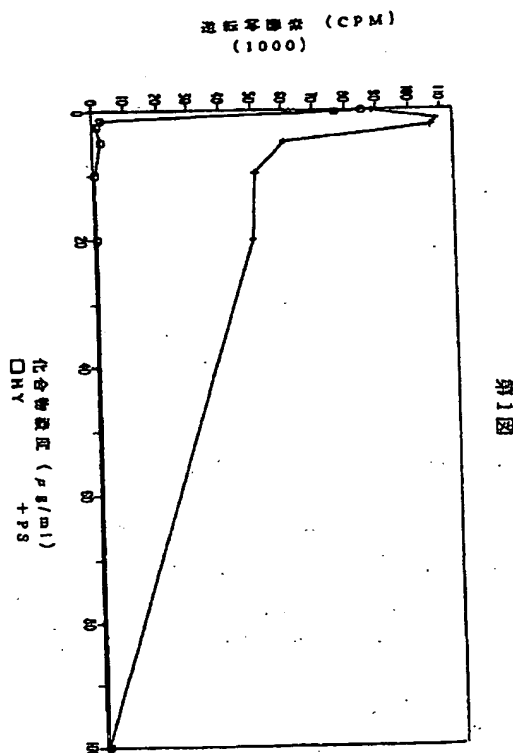
$R = CH_3$



$R = H$

上記化合物の合成は、ブロックマンらの文献 (Brockmann, H. et al., Tetrahedron,
Letter 23: 1991-1994, 1974) に記載されている。

上記化合物の合成に関しては、ブロックマンら (
Brockmann, H. et al.,) による米国特許第 2,707,704
号 (1955年5月3日) に記載されている。

[illegible]

IN EXAMINER'S COMMENTS TO BE SUPPLEMENTED BY THE EXAMINER		PCZ/US90/00398
C. Other of the prior art		Examiner's Remarks
X	US, A, 4,755,170 (GOLDEN) 05 July 1988 See column 1 (lines 40-50) for the device and claim 8 for incorporation of the antiviral agent.	1,2,4,6,8,9, 21,29 23-25,27,31
X,P V,P	US, A, 4,833,064 (SCHLEIN) 08 August 1989 See the Abstract and Figure 1 for the device, see the paragraph bridging column 3 to column 4 for an apparatus intended for drawing blood, and column 2 (lines 22-63) for a disclosure relating to the prevention of AIDS infection.	1,2,4,6,8,11, 13,21,29 27,31,33-37, 39,40
X,P V,P	US, A, 4,872,464 (LOEB) 10 October 1989 See the figure drawings for the condom, column 1 (lines 12-25) for a disclosure of prevention of AIDS, and column 2 (lines 6-8) for inclusion of the antiviral agent.	1,2,5,8,9,11- 14, 29,30 1-9,11-13,15- 20,28-31
Y	AIDS Treatment News, Issue No. 63, 26 August 1988, John S. James "Hyperimmune Gamma Globulin Shows Anti-retroviral Activity" pages 360-363. See the entire article.	19,22-25
A	US, A, 3,874,384 (DEINHOFFER) 01 April 1975	1-3,8-13,24, 26,27,29,31
A	US, A, 4,670,013 (BARNES) 02 June 1987	1-3,8-13,24, 26,27,29,31
A,P	US, A, 4,840,618 (MARVEL) 20 June 1989	1-4,6,8-13,24, 26,27,29,31

FURTHER INFORMATION CERTIFIED FROM THE EXAMINER	
<input type="checkbox"/> EXAMINATION WHERE CERTAIN CLAIMS WERE FOUND RESEARCHABLE This examination was not held for the purpose of examining the claims of the invention as set forth in the following statement: <input type="checkbox"/> Claim numbers: _____ because they were not found to be researchable by the examiner. <input type="checkbox"/> Claim numbers: _____ because they were not found to be researchable by the examiner. <input type="checkbox"/> Claim numbers: _____ because they were not found to be researchable by the examiner. <input type="checkbox"/> Claim numbers: _____ because they were not found to be researchable by the examiner.	
<input type="checkbox"/> EXAMINATION WHERE UNITY OF INVENTION IS LACKING The examiner has examined the claims of the invention and has found that the claims are not directed to a single invention as follows: I. Claims 1-13 and 29-31, drawn to an article of manufacture comprising a container for holding a biological fluid and an antiviral compound. II. Claims 14-20, drawn to a composition containing a peroxidic agent and an antiviral compound. (CONTINUED ON EXTRA SHEET #1) <input type="checkbox"/> As all required additional search fees were timely paid by the applicant, the international search report issued by the international search authority. <input type="checkbox"/> As only those of the required additional search fees were timely paid by the applicant, the international search report issued by the international search authority for those claims for which fees were paid, specifically claims: _____ <input type="checkbox"/> No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, the international search report is not issued as the applicant has abandoned the claims it is claimed by the applicant.	
<input type="checkbox"/> As all required additional search fees were timely paid by the applicant, the international search report issued by the international search authority. <input type="checkbox"/> As only those of the required additional search fees were timely paid by the applicant, the international search report issued by the international search authority for those claims for which fees were paid, specifically claims: _____ <input type="checkbox"/> No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, the international search report is not issued as the applicant has abandoned the claims it is claimed by the applicant.	

PCZ/US90/00398
Extra Sheet #1

OBSERVATIONS WHERE UNITY OF INVENTION IS LACKING

- III. Claims 21-27, drawn to a biological fluid (Semen) and an antiviral compound.
- IV. Claim 28, drawn to a vaginal lubricating agent and an antiviral compound.

第1頁の続き

⑨Int. Cl.

識別記号

庁内整理番号

A 01 N	1/02		6742-4H
A 61 B	5/14	3 0 0 E	8932-4C
A 61 F	6/04		
A 61 J	1/05		
A 61 K	31/12		6971-4C
	31/13		6971-4C
	31/18		6971-4C
	31/215		6971-4C
	31/35		7475-4C
	35/14		8615-4C
	45/00	ABD	8415-4C
	45/08	ADY	8415-4C
A 61 L	2/26	A	7038-4C
	15/00		6971-4C
A 61 M	1/02		7720-4C

⑩発 明 者 ラヴィー, ガツド

アメリカ合衆国 ニューヨーク 10003 ニューヨーク イースト
15 ストリート 21